



7-Ethyl-10-hydroxycamptothecin誘導体のナノ粒子の作製と抗腫瘍活性評価に関する研究

著者	小関 良卓
号	70
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	理博第2982号
URL	http://hdl.handle.net/10097/64206

論文内容要旨

氏 名	小関 良卓	提出年	平成 27 年
学位論文の 題 目	7-Ethyl-10-hydroxycamptothecin 誘導体のナノ粒子の作製と 抗腫瘍活性評価に関する研究		

論文目次

第 1 章 序論

第 2 章 SN-38 プロドラッグの合成に基づいた高い加水分解耐性を有する薬剤ナノ粒子の探索

第 3 章 SN-38 脂肪酸プロドラッグ薬剤ナノ粒子の薬効評価

第 4 章 SN-38 コレステロール誘導体薬剤ナノ粒子の薬効評価

第 5 章 総括

論文内容要旨

第 1 章 序論

近年、粒径 200 nm 以下にサイズ制御した薬剤（ナノ薬剤）をがん病巣へ効率的に集積させる薬剤ターゲティングに関する研究が試みられている。ナノ薬剤の作製には、リポソームや高分子ミセル等からなるナノキャリアに薬物を内包させる手法が報告されているが、ナノキャリアによる抗原性の発現や、1 つのナノ粒子に担持可能な薬物の量が少ない等の問題点が指摘されている。以上の背景を踏まえ、本研究では上記の問題点を克服した有効性の高い薬剤の開発を目指して、キャリアフリーのナノ薬剤「薬剤ナノ粒子」の創成を目的とした。

第 2 章 SN-38 プロドラッグの合成に基づいた高い加水分解耐性を有する薬剤ナノ粒子の探索

血中における薬剤ナノ粒子の加水分解耐性を向上させることを目的として、1) SN-38 二量体薬剤ナノ粒子の表面修飾、2) SN-38 への種々の疎水性置換基の導入を検討した。SN-38 二量体の薬剤ナノ粒子をポリソルベート 80 による表面修飾を行った場合、ポリソルベート 80 の添加量に関係なく、マウス血清中における加水分解が速やかに進行した。一方、SN-38 のフェノール性水酸基へ種々の置換基を導入したプロドラッグを合成し、その薬剤ナノ粒子を用いて加水分解耐性を評価したところ、導入した置換基

の疎水性が高くなるにつれて、薬剤ナノ粒子の加水分解耐性が向上することが明らかになった。すなわち、SN-38 プロドラッグの疎水性の向上に伴って、分散溶媒である水への溶解度が低下したためであると考えられる。薬剤ナノ粒子の粒径、加水分解耐性、および導入した置換基の毒性・安定性を勘案して、最終的に、ミリスチン酸を導入した SN-38 (SN-38-C₁₄) およびコレステロールを導入した SN-38 (SN-38-choI) を、本研究の目的を達成するための有望な SN-38 プロドラッグとして選抜した。

第 3 章 SN-38 脂肪酸プロドラッグ薬剤ナノ粒子の薬効評価

第 2 章で選抜した SN-38-C₁₄を含めて脂肪酸を導入した SN-38 プロドラッグ薬剤ナノ粒子の *in vitro* 活性評価を行った。炭素数 2~22 の脂肪酸を導入した SN-38 プロドラッグ薬剤ナノ粒子のがん細胞増殖抑制活性を評価した結果、炭素数の増加に伴って活性が低下することが明らかになった。ここで、がん細胞への薬剤ナノ粒子の取り込み効率を調べたところ、脂肪酸の炭素数の増加に伴って細胞内のプロドラッグの量が増加する傾向にあった。その一方で、エステラーゼによる加水分解性を調べた結果、脂肪酸の炭素数の増加に伴って加水分解が逆に抑制されることが判明した。これらの結果から、細胞内における加水分解性が、がん細胞増殖抑制活性を決定する主要因であると結論付けた。次に、脂肪酸を導入した SN-38 プロドラッグの薬剤ナノ粒子を用いて動物実験を行うことを試みたが、動物実験に必要な高濃度の薬剤ナノ粒子分散液を作製した場合、巨大な微粒子が形成され、EPR 効果の発現が期待される 10~200 nm の薬剤ナノ粒子を得ることができなかった。そこで、前章で選抜したもう一つの SN-38 プロドラッグである SN-38-choI について、次章では検討することにした。

第 4 章 SN-38 コレステロール誘導体薬剤ナノ粒子の薬効評価

第 2 章で選抜した SN-38-choI の薬剤ナノ粒子を用いて、*in vitro*、*in vivo* 活性試験を行った。4T1-Luc 細胞を用いてがん細胞増殖抑制活性を評価したところ、SN-38-choI 薬剤ナノ粒子は irinotecan と比較して高い活性を示した。また、担がんマウスを用いた *in vivo* 抗腫瘍活性試験においても SN-38-choI 薬剤ナノ粒子は irinotecan と比較して高い活性を示した。さらに、SN-38-choI 薬剤ナノ粒子の投与濃度を 1/10 とした場合、irinotecan と同程度の活性を示したことから、優れた薬理効果が確認された。この *in vivo* 抗腫瘍活性の差は、SN-38-choI 薬剤ナノ粒子が irinotecan よりも高い血中滞留性を有することから、腫瘍組織を構成するがん細胞の核内へと到達した SN-38 量の差と示唆される。また、irinotecan の主な副作用である下痢の原因となる腸管損傷を評価したところ、irinotecan を投与した場合と比較して SN-38-choI 薬剤ナノ粒子の投与時は腸管損傷が抑制されることが明らかになった。

第 5 章 総括

以上の結果を総括する。本研究では、抗がん活性物質 SN-38 の様々な誘導体の薬剤ナノ粒子を作製し、その加水分解性が構成分子の疎水性に依存することを明らかにした。さらに、SN-38-choI 薬剤ナノ粒子は現在臨床で用いられている irinotecan と比較して優れた薬理効果が発現する一方で、副作用発現の一因となる腸管損傷を抑制するという興味深い結果が得られ、今後の臨床応用が期待される。

本研究で得られた最も重要な知見は、薬剤ナノ粒子の加水分解性は、薬剤ナノ粒子を構成するプロド

ラッグの疎水性に依存することを明らかにした点である。薬剤ナノ粒子の応用範囲を考えると、がん治療薬のみならず点眼薬や塗布剤等、様々な疾患の治療薬としても適用可能と考えられる。各々の疾患ごとに最適な加水分解性が異なることが予想されるが、その際に、薬物へ導入する置換基の疎水性を最適化することで、患部における薬物の放出性を制御することが可能になると見込まれる。

本研究の成果が、将来、画期的な新薬を開発するための一助となれば幸甚である。

論文審査の結果の要旨

小関良卓提出の本論文では、ナノサイズに制御した薬剤（ナノ薬剤）をがん病巣へ効率的に集積させる薬剤ターゲティングが注目されているが、これまでのリポソームや高分子ミセル等からなるナノキャリアに薬物を内包させる手法では、そのナノキャリアによる抗原性の発現や担持可能な薬物の量が少ない等の問題点が指摘されており、これらの課題を克服した有効性の高いキャリアフリーのナノ薬剤「薬剤ナノ粒子」の創成を目的とした。

第2章では、抗がん剤であるSN-38プロドラッグの合成に基づいた高い加水分解耐性を有する薬剤ナノ粒子の探索を行った。作製した薬剤ナノ粒子の加水分解耐性を評価した結果、導入した置換基の疎水性が高くなると、薬剤ナノ粒子の加水分解耐性の向上が明らかになった。薬剤ナノ粒子の粒径、加水分解耐性、および導入した置換基の毒性・安定性を勘案して、ミリスチン酸を導入したSN-38-C₁₄およびコレステロールを導入したSN-38-cholを有望なSN-38プロドラッグとして最終的に選んだ。

第3章では、SN-38-C₁₄を含め、脂肪酸を導入したSN-38プロドラッグ薬剤ナノ粒子の*in vitro*活性評価を行った。がん細胞増殖抑制活性を評価した結果、炭素数の増加に伴って活性は低下した。がん細胞への薬剤ナノ粒子の取り込み効率は、脂肪酸の炭素数の増加に伴って細胞内のプロドラッグの量が増加する傾向にあった。一方で、エステラーゼによる加水分解性を調べた結果からは、脂肪酸の炭素数の増加に伴って加水分解が逆に抑制されることが判明した。すなわち、細胞内における加水分解性が、がん細胞増殖抑制活性を決定する主要因であると結論付けた。

第4章では、第2章で選んだSN-38-cholの薬剤ナノ粒子を用いて、*in vitro*、*in vivo*活性試験を行った。4T1-Luc細胞を用いてがん細胞増殖抑制活性を評価した結果、SN-38-chol薬剤ナノ粒子は上市薬であるイリノテカンと比較して高い活性を示した。また、担がんマウスを用いた*in vivo*抗腫瘍活性試験においてもSN-38-chol薬剤ナノ粒子はイリノテカンと比較して高い活性を示した。さらに、SN-38-chol薬剤ナノ粒子の投与濃度を1/10とした場合、イリノテカンと同程度の活性を示し、ここでも優れた薬理効果が確認された。この*in vivo*抗腫瘍活性の差は、SN-38-chol薬剤ナノ粒子がイリノテカンよりも高い血中滞留性を有することから、腫瘍組織を構成するがん細胞の核内へ到達したSN-38量の差と示唆される。また、イリノテカンの主な副作用である下痢の原因となる腸管損傷を評価したところ、イリノテカンと比較してSN-38-chol薬剤ナノ粒子の投与時は腸管損傷が抑制されることも明らかになった。

第5章では、本研究を総括した。最も重要な知見は、薬剤ナノ粒子の加水分解性は、プロドラッグの疎水性に依存することを明らかにしたことである。薬剤ナノ粒子は、がん治療薬のみならず点眼薬や塗布剤等、様々な疾患の治療薬としても応用可能と考えられる。疾患ごとに最適な加水分解性は異なることが予想されるが、導入する置換基の疎水性を最適化することで、患部における薬物の放出性を制御することが可能になると見込まれる。

以上、本論文は著者が自立して研究活動を行うに必要な高度の研究能力と学識を有することを示している。したがって、小関良卓提出の博士論文は、博士（理学）の学位論文として合格と認める。